Über Fortpflanzungserscheinungen bei Monocystis rostrata n. sp.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

philosophischen Fakultät

der

königl. bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Karl Mulsow

aus Neubrandenburg (Mecklenburg).

München

1911.

Über Fortpflanzungserscheinungen bei Monocystis rostrata n. sp.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

philosophischen Fakultät

der

königl. bayer. Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

ACAD. LUDWIGS-MAX. BIBL.

vorgelegt von

Karl Mulsow

aus Neubrandenburg (Mecklenburg).

München

1911.

Abdruck
aus
Archiv für Protistenkunde. Bd. XXII. Heft 1. 1911.
Herausgegeben von Dr. M. Hartmann und Dr. S. v. Prowazek.
Verlag von Gustav Fischer, Jena.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Inhalt.

Einleitung.
Material und Methoden.
I. Spezieller Teil:
1. Entstehung der ersten Teilungsspindel.
2. Vermehrungsteilungen.
3. Reifeteilungen.
4. Gameten, Copulation und Sporocysten.
II. Allgemeiner Teil:
1. Entstehung der ersten Teilungsspindel.
2. Bildung der Chromosomen.
3. Die „Strahlungen".
4. Vermehrungsteilungen und somatische Kerne.
5. Reifeteilungen.
6. Gameten und Gametendimorphismus.
Anhang.
Literaturverzeichnis.
Tafelerklärung.

Einleitung.

Da die Gregarinen infolge ihrer Größe und ihres häufigen Vorkommens ein günstiges Untersuchungsobjekt unter den Protozoen bilden, ist es erklärlich, daß über diese Tiere eine recht umfangreiche Literatur vorliegt. Wie überhaupt bei Protozoen, so hat man auch bei den Gregarinen den Fortpflanzungserscheinungen stets eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt, so daß wir heute über diese Vorgänge in vielen Punkten recht gut orientiert sind.

Nach einem mißlungenen Versuch von WOLTERS, die geschlechtliche Fortpflanzung der Gregarinen aufzuklären, gab SIEDLECKI (1900) als erster in seiner Untersuchung über die geschlechtliche Vermehrung der *Monocystis ascidiae* ein vollständiges Bild vom Lebenscyclus einer Gregarine. Im wesentlichen gilt dieser von SIEDLECKI gegebene Cyclus auch heute noch als der typische Verlauf der Fortpflanzung bei Gregarinen.

Was SIEDLECKI an der *Monocystis ascidiae* gefunden hatte, konnte bald darauf CUÉNOT (1901) an verschiedenen anderen Gregarinen bestätigen und durch manche cytologische Einzelheiten ergänzen. BRASIL (1905), der ebenfalls durch interessante Befunde das Bild vervollständigte, fand als erster bei Gregarinen einen sexuellen Dimorphismus der Gameten, wie man ihn schon lange in viel stärkerer Ausprägung bei den nahe verwandten Coccidien kannte. Diese Beobachtung von BRASIL, daß auch bei Gregarinen eine anisogame Befruchtung vorkommt, wurde dann in einer ganzen Reihe von Arbeiten verschiedener Autoren bestätigt und verallgemeinert. Besonders sind es die zahlreichen Untersuchungen der beiden französischen Forscher LÉGER und DUBOSCQ, die eine hervorragende Bedeutung für unsere Kenntnisse von der Fortpflanzung der Gregarinen haben und uns mit einer großen Zahl auch allgemein interessanter Erscheinungen bekannt gemacht haben.

So gut wir nun auch im allgemeinen die Fortpflanzung der Gregarinen heute kennen, so herrscht doch noch in manchen Punkten von nicht geringer Bedeutung Unklarheit oder völliges Dunkel. In der vorliegenden Arbeit habe ich versucht, zur Klärung solcher Punkte einen Beitrag zu liefern, und zwar sind es besonders die Frage nach der Herkunft der ersten Teilungsspindel und die Frage nach den Reduktionsvorgängen, die behandelt werden sollen. Dazu gesellten sich dann noch manche mehr gelegentliche Beobachtungen, die zum Teil noch unvollständig bleiben mußten.

Material und Methoden.

Nachdem ich mich einige Zeit mit den Fortpflanzungserscheinungen der kleineren, die Samenblasen der Regenwürmer bewohnenden Monocystideen beschäftigt hatte, auf deren Studium mich mein verehrter Lehrer, Herr Geheimrat v. Hertwig, hingewiesen hatte, fand ich gelegentlich eines Ferienaufenthaltes in meiner Heimatstadt Neubrandenburg eine ebenfalls in Regenwürmern lebende Gregarine, die sich schon durch ihre bedeutende Größe als weitaus günstigeres Untersuchungsobjekt erwies. Seitdem untersuchte ich ausschließlich die Fortpflanzungserscheinungen dieser Spezies.

Die Systematik der Gregarinen, im besonderen auch die der Regenwurmmonocystideen, hat ja von jeher große Schwierigkeiten bereitet. Es ist daher mit Freude zu begrüßen, daß vor kurzem ein französischer Autor, Edmond Hesse, es unternommen hat, auf Grund ausgedehnter Untersuchungen in seiner „Contribution à l'étude des Monocystidées des Oligochètes" betitelten Arbeit die Systematik der genannten Gruppe einer eingehenden Revision und Neuordnung zu unterziehen. Im Anschluß an das von Hesse geübte Verfahren gebe ich für die meinen Untersuchungen zugrunde liegende Gregarine folgende Diagnose:

„*Monocystis* von länglich eiförmiger Gestalt, im Mittel 450 μ lang und 220 μ breit. Vorderende häufig schnabelartig verlängert (Taf. 5, Fig. 59). Dicke Pellicula mit feiner Längsstreifung. Kern kugelig, mit einem großen Nucleolus. Paraglykogenkörner kugelig. Cysten kugelig, ca. 750 μ im Durchmesser. Sporocysten 23 μ lang und 9 μ breit. Vorkommen in den Samenblasen und deren nächster Umgebung bei *Lumbricus terrestris*. Vegetative Stadien im Herbst und Winter, Encystierung nur im Frühjahr."

Die so charakterisierte Form scheint auch Hesse vorgelegen zu haben, doch hat er sie wohl mit einer anderen Art unter dem Namen *Monocystis herculea* vereinigt. Die Angabe Hesse's, diese Species trete in den Samenblasen mitunter so zahlreich auf, daß sie die Geschlechtszellen völlig verdränge und daß die Parasiten sich aus Platzmangel gegeneinander abplatten, ist für meine Spezies sehr zutreffend; ebenso die Beobachtung, daß besonders die jüngeren Regenwürmer von dem Parasiten bevorzugt sind. Dagegen treffen die übrigen von Hesse aufgeführten Merkmale für eine auch von mir häufig beobachtete Art zu, die ich nie in den Samenblasen oder

deren Nähe, sondern nur in den weiter rückwärts gelegenen Teilen der Leibeshöhle fand. Von dieser Species stammen auch die von Hesse und anderen Autoren oft gefundenen Cysten im hintersten Ende der Leibeshöhle, während die Cysten der Samenblasenform sich ebenso wie die der verschiedenen kleineren Monocystideen in den Samenblasen finden. Ein sehr charakteristisches Unterscheidungsmerkmal der beiden Formen bietet der Kern, der bei den Gregarinen der Leibeshöhle mehrere (meist 4—6) Nucleolen enthält, während der Kern der Samenblasenform stets nur einen Nucleolus aufweist. Da sich die Angaben von Hesse zum größten Teil auf die in der Leibeshöhle vorkommende Species beziehen, schlage ich vor, die von mir untersuchte Form als neue Species zu betrachten und *Monocystis rostrata* zu benennen, im Anschluß an die schnabelartige Verlängerung des Vorderendes.

Für die Beschaffung des Materials war es von großem Wert, daß die *Monocystis rostrata* meistens in Masseninfektionen auftritt. Von den untersuchten Regenwürmern waren zwar nur etwa 10 Proz. überhaupt infiziert, diese dann aber auch meistens sehr stark, so daß die Parasiten in größeren Portionen konserviert werden konnten. Ein weiterer, sehr wesentlicher Vorteil bei der Materialgewinnung ist es, daß die Entwicklung dieser Gregarine in bestimmt festgelegter Weise von der Jahreszeit abhängt. Die Encystierung erfolgt mit großer Regelmäßigkeit zu Beginn des Frühjahrs, wenn die Regenwürmer nach der Winterruhe wieder an die Oberfläche kommen. Es ist daher möglich, durch planmäßiges Fixieren alle Stadien der in der Cyste ablaufenden Prozesse zu bekommen.

Zur Fixierung wurden verschiedene Gemische verwandt, die sich je nach dem vorliegenden Stadium verschieden bewährten. Gute Bilder für alle Stadien lieferte der Schaudinn'sche Sublimatalkohol mit einem Zusatz von 0,25 Proz. Eisessig; für die frühesten Stadien kam diese Flüssigkeit ausschließlich zur Anwendung. Pikrinessigsäure ergibt sehr gute Bilder von den achromatischen Strukturen der Mitose, während sie für Kernstrukturen völlig unbrauchbar ist. Das Verhalten der chromatischen Elemente bei der Mitose wurde sehr klar dargestellt durch Behandlung mit dem Gemisch von Carnoy. Dieses Verfahren ermöglichte auch das Studium der Vorgänge, die sich bei den schon recht kleinen, letzten Mitosen vor der Gametenbildung abspielen. Das starke Gemisch nach Flemming war ebenfalls für diese Stadien recht günstig und lieferte die schönsten Resultate bei Gameten und Copulae.

Die außerordentliche Größe der Tiere gestattet es, die Cysten

mit bloßem Auge zu präparieren und bei einiger Übung auch annähernd das Entwicklungsstadium zu erkennen.

Am lebenden und am gefärbten Totalpräparat ist von den Vorgängen in der Cyste bis zur Gametenbildung wenig zu erkennen wegen des starken Gehaltes an Paraglykogenkörnern; es wurden diese Vorgänge daher ausschließlich an Schnitten untersucht. Gefärbt wurde meistens mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, daneben zur Kontrolle auch mit Hämatoxylin nach Delafield, Boraxkarmin (Stückfärbung), Safraninlichtgrün u. a.

I. Spezieller Teil.

Im folgenden beschäftigen uns nur die Vorgänge an der *Monocystis rostrata* vom Beginn der Encystierung bis zur Fertigstellung der reifen Dauercyste. Dieser Entwicklungsgang verläuft im allgemeinen genau so, wie er für zahlreiche typische Gregarinen bekannt ist. Zwei erwachsene Tiere schließen sich in eine gemeinsame Cystenmembran ein. Der Kern eines jeden löst sich auf, nur ein kleiner Teil des Chromatins findet weitere Verwendung in der

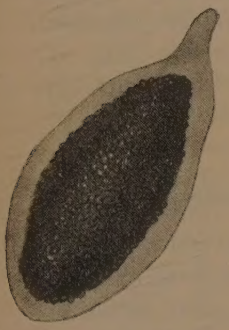
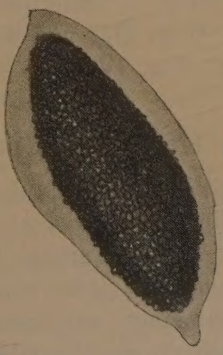


Fig. I.



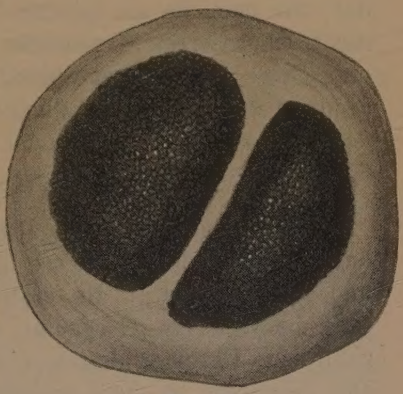


Fig. II.

ersten Teilungsspindel. An die erste Kernteilung schließt sich eine lange Kette fortgesetzter mitotischer Teilungen an, die schließlich eine große Menge kleiner Kerne ergeben. Diese sammeln sich an der Oberfläche beider Gregarinen, die jetzt durch tiefe Einkerbungen eine stark gelappte Gestalt angenommen haben. Jeder Kern liefert mit einem Klümpchen hyalinen Protoplasmas einen Gameten, der

sich von dem übrigbleibenden Restkörper der Gregarine ablöst. Die Gameten beider Tiere unterscheiden sich nicht voneinander. Die Gameten des einen Tieres copulieren mit denen des anderen paarweise. Aus der so entstandenen Copula entwickelt sich die Sporocyste mit den 8 Sporozoiten.

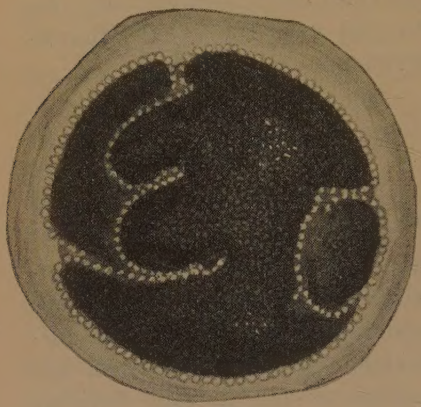


Fig. III.

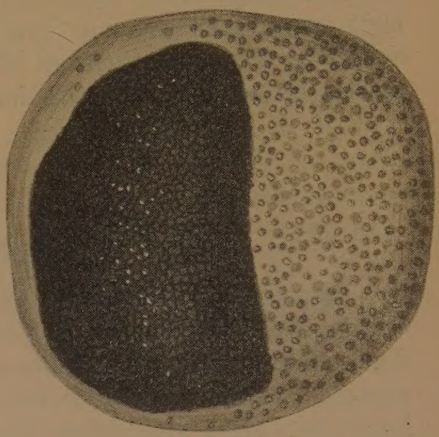


Fig. IV.

Die Textfiguren I—IV stellen vier charakteristische Stadien dar, wie man sie am lebenden Objekt beobachtet: die erwachsenen, nicht encystierten Gregarinen (Fig. I), eine junge Cyste (Fig. II), eine Cyste in Gametenbildung (Fig. III) und eine Cyste auf dem Stadium der Gametencopulation (Fig. IV).

1. Entstehung der ersten Teilungsspindel.

Die in der Cyste sich abspielenden Vorgänge werden eingeleitet durch verschiedene Prozesse, die sich in und an dem Kern abspielen und deren Resultat die erste Teilungsspindel ist. Der Kern der jung encystierten Gregarine enthält einen großen Nucleolus und zahlreiche Chromatinbrocken auf einem achromatischen Gerüstwerk. Der Nucleolus ist stark vacuolisiert, die Vacuolenwände färben sich stark chromatisch, der Inhalt der Vacuolen bleibt farblos. Es sind nun hauptsächlich drei nebeneinander verlaufende Prozesse, die mit der Fertigstellung der ersten Teilungsspindel endigen: die Auflösung des Nucleolus, die Bildung der Chromosomen und die Entstehung der achromatischen Spindelfigur.

Der Nucleolus, der anfangs sehr große Vacuolen aufwies, wird nach und nach dichter, die Vacuolen werden klein und das Volumen

nimmt bedeutend ab, wie es die Fig. 10—13 zur Anschauung bringen. Schließlich macht der Nucleolus einen fast homogenen Eindruck (Fig. 13), dann tritt wieder eine scharfe Sonderung in chromatische und nichtchromatische Substanz ein. In E.-H.-Präparaten sieht man in einer grauen Grundmasse tiefschwarze Kugeln von verschiedener Größe; bei Färbung mit Boraxkarmin zeigen sich stark rotgefärbte Kugeln in einer blaßroten Grundsubstanz (Fig. 14—16). Die Chromatinkugeln verlassen den Nucleolus und finden sich im ganzen Kern verteilt neben den hier schon vorhandenen chromatischen Elementen des Kerngerüstes. Die so gebildeten sekundären Nucleolen können denselben Vorgang einer Sonderung in zwei Substanzen nochmals zeigen (Fig. 17). Der Hauptnucleolus entleert sein Chromatin vollständig, bleibt noch einige Zeit als blaß färbbare Kugel erhalten (Fig. 18) und verschwindet schließlich spurlos. Dasselbe Schicksal haben die zahlreichen kleineren, nucleolenartigen Kugeln. Außer den noch zu besprechenden Chromosomen bleibt von dem ganzen Inhalt des Kerns nichts weiter übrig als ein leeres achromatisches Netzwerk. Dieser ganze Auflösungsvorgang erreicht sein Ende nicht immer zur selben Zeit. Mitunter ist der Kern schon auf dem Stadium der fertigen ersten Spindel völlig chromatinfrei, in anderen Fällen findet sich noch ein Häuflein kleiner Chromatinkugeln zur Zeit der zweiten Mitose und noch später.

Die anfangs sehr deutliche Kernmembran ist allmählich verschwunden, doch ist auch ihre Auflösung an keinen bestimmten Zeitpunkt gebunden.

Wie schon erwähnt, sind es von den chromatischen Bestandteilen des Kernes allein die Chromosomen, die noch eine weitere, für uns wahrnehmbare Verwendung finden. Man sieht die Chromosomen zunächst als langgezogene, chromatische Fäden zwischen den in Auflösung begriffenen Chromatinkugeln und zwar stets in einem auffälligen Zusammenhange mit diesen (Fig. 19, 20). Dann findet man hier und da im Kernraum einzelne kürzere und dickere Chromatinschleifen, die schon etwa die Gestalt der späteren Chromosomen der ersten Mitose haben (Fig. 21). Schließlich sieht man ein dichtes Knäuel der durcheinander geflochtenen Chromosomen, das in dieser Form auch in die erste Teilungsspindel eintritt (Fig. 22).

Neben den geschilderten Prozessen der Nucleolenauflösung und der Chromosomenbildung läuft die Ausbildung der achromatischen Bestandteile der ersten Teilungsspindel, wie sie in Fig. 1—7 dargestellt ist. Von diesen Figuren ist Fig. 2 aus zwei Schnitten eines Kernes kombiniert, während die übrigen Bilder nur einen Schnitt

darstellen. Da sich ein Kern durch 10—12 Schnitte à 7,5 μ erstreckt, eine Kombination aller dieser Schnitte mit Rücksicht auf die Klarheit des Bildes aber nicht geboten erschien, findet sich der große Nucleolus nur in Fig. 3, während er für die übrigen abgebildeten Kerne in anderen Schnitten zu suchen ist, sofern er nicht schon aufgelöst ist.

Als früheste Anlage der achromatischen Figur fand ich zwei kleine Einbuchtungen in der Kernmembran, die ausgefüllt sind mit einer dichten Protoplasmaanhäufung; in dieser liegen einige kleine, unregelmäßige färbbare Brocken (Fig. 1). Die Protoplasmaanhäufung verliert sich nach außen in einzelnen Ausläufern in den Maschen der großen Protoplasmaalveolen. Einen Kern mit einer derartigen Anlage oder Bilder, die auf eine Teilung einer einheitlichen in zwei Anlagen deuten könnten, habe ich nie zu Gesicht bekommen. Die beschriebene Anlage nimmt mehr und mehr an Größe zu und erhält zugleich eine bestimmte Struktur. Es tritt eine von einem Zentrum ausgehende strahlenförmige Anordnung auf (Fig. 2), die nach und nach einen bedeutenden Umfang erreicht und sich weit ins Protoplasma hinaus erstreckt (Fig. 3). Die Einbuchtung der Kernmembran wird tiefer und nimmt mitunter eine trichterförmige Gestalt an. An der ins Protoplasma hinaustretenden Strahlung bemerkt man gewöhnlich außer der radiären Anordnung noch eine konzentrische Schichtung, hervorgerufen durch stärker und schwächer färbbare Zonen um den Mittelpunkt der Strahlung. Nach dem Kern zu ist die ganze Strahlung meistens sehr scharf begrenzt durch die Kernmembran, so daß es den Anschein erweckt, als sei das Kerninnere an der Entstehung des ganzen Gebildes völlig unbeteiligt. Doch finden sich auch gelegentlich Bilder, die durch Fortsätze der Strahlung in das Kerninnere (Fig. 9) oder durch deutliche Faserzüge, die sich weit in den Kern hinein erstrecken (Fig. 8) irgendeinen Zusammenhang der Strahlung mit dem Kerninnern vermuten lassen.

Im Zentrum der Strahlung fand ich nie irgend etwas, das man als Centrosom oder Centriol hätte ansprechen können. Wohl sieht man sehr häufig im Mittelpunkt färbbare Körperchen liegen, die in manchen Fällen um das Zentrum der Strahlung gleichmäßig gruppiert erscheinen; häufig in annähernd ringförmiger Anordnung; in anderen Fällen liegen sie völlig regellos und haben wohl schon deshalb, wie auch wegen ihrer ganz willkürlichen Gestalt keinen Anspruch auf den Namen Centrosom oder Centriol.

Die gegenseitige Lage der beiden Strahlungen am Kern ist sehr verschieden. Gelegentlich liegen sie an entgegengesetzten Polen

(Fig. 2), sonst einander mehr oder minder genähert. Zur Bildung der ersten Teilungsspindel rücken die beiden Strahlungen ganz nahe aneinander, so daß ihre beiderseitigen Strahlen miteinander in Berührung kommen (Fig. 5). Dabei behält der Kern seine annähernd kugelige Gestalt bei und man muß sich wohl vorstellen, daß die Strahlungen gewissermaßen auf seiner Oberfläche entlang gleiten. Zwischen den beiden zusammengerückten Strahlungen finden sich nun die zu einem dichten Knäuel zusammengerollten Chromosomen. Wie Fig. 4 zeigt, kommt es vor, daß sich das Chromosomenknäuel schon früher einer der beiden Strahlungen anlegt (die Strahlungen sind in diesem Präparat schlecht fixiert und zeigen daher nicht die typische Struktur). Die eigentliche Spindel kommt nun dadurch zustande, daß sich die Strahlen der beiden Strahlungen an ihren zueinander gewandten Seiten zu Spindelfasern vereinigen, während die Zentren der Strahlungen zu den Spindelpolen werden (Fig. 6). Zugleich ordnen sich die zusammengeknäuelten Chromosomen zu einer Äquatorialplatte an. Damit ist die erste Teilungsspindel fertiggestellt (Fig. 7). Die weiteren Stadien der Mitose verlaufen ganz so, wie ich sie noch für die späteren Vermehrungsteilungen beschreiben werde.

2. Vermehrungsteilungen.

Nach Ablauf der ersten Teilung finden sich zwei kleinere Kerne, die zunächst in völlige Ruhe übergehen, dann aber wieder zur Teilung schreiten. Gewöhnlich entfernen sich die Tochterkerne nicht weit voneinander, so daß man die 4, 8, 16, 32, auch noch 64 Kerne deutlich in einer Region des Tieres gruppiert findet; dazwischen liegen nicht selten die schon oben erwähnten letzten Reste des aufgelösten ursprünglichen Kernes. Während bis etwa zum 16- oder 32-Kernstadium alle Kerne eines Individuums einigermaßen gleichen Schritt halten in den Teilungen, verschwindet diese Gleichmäßigkeit später völlig und man findet alle Stadien der Mitose neben ruhenden Kernen. Die beiden Tiere einer Cyste findet man nur selten auf gleicher Etappe der Entwicklung; fast immer ist das eine Tier schon bei der Ausbildung der ersten Teilungsspindel dem anderen voran.

An der Hand der Fig. 23—37 will ich nun kurz den typischen Verlauf der Vermehrungsteilung beschreiben; dabei beschränke ich mich zunächst auf das Verhalten der chromatischen Elemente. Da die Abbildungen aus verschiedenen Cysten von verschiedenen

Stadien entnommen sind, ist es erklärlich, daß die Größenverhältnisse in den aufeinanderfolgenden Bildern nicht immer zueinander passen.

Der ruhende Kern besitzt ein achromatisches Retikulum, über das Chromatinbrocken verschiedener Größe gleichmäßig verteilt sind (Fig. 23). Die Chromatinbrocken beginnen hier und da, sich zu Reihen hintereinander zu ordnen (Fig. 24). Indem sich das Chromatin immer mehr auf bestimmte Bahnen konzentriert, kommt es zur deutlicheren Ausbildung großer chromatischer Stränge (Fig. 25). Diese vereinigen schließlich alles Chromatin des Kernes in sich und nehmen glatte Konturen an (Fig. 26). Daß auf diesem Stadium ein einheitlicher Faden vorliegt, glaube ich nicht: ob aber die einzelnen Fadenstücke in der Chromosomenzahl vorliegen, ist nicht zu entscheiden. Bevor die Chromosomen in die Spindel eintreten, findet man wieder, ganz ähnlich wie bei der Bildung der ersten Spindel, ein dichtes Knäuel zusammengerollter chromatischer Fäden (Fig. 27). Dieses löst sich dann in der Äquatorialebene der inzwischen aufgetretenen Spindel zur Äquatorialplatte auf (Fig. 28). Die Zahl der Chromosomen beträgt 8. Fig. 29 zeigt die Chromosomen zum Teil noch eingerollt, während sie in Fig. 30 ihre normale Gestalt und Lage eingenommen haben. Sie ordnen sich alle ungefähr so an, daß das eine, hakenförmig umgebogene Ende mit der Umbiegungsstelle nach der Mitte der Äquatorialplatte orientiert ist.

Jedes Chromosom spaltet sich nun der Länge nach, gewöhnlich von einem Ende beginnend (Fig. 31). Dabei sind die Spalthälften nicht selten umeinander geschlungen. Die vollendete Längsspaltung zeigt Fig. 32 in einem schief zur Äquatorialplatte geführten Schnitt. Beim Beginn der Anaphase rücken die Chromosomen so auseinander, daß die hakenförmig umgebogenen Enden sich zuerst voneinander entfernen und den Polen zustreben, während die anderen Enden noch länger einander parallel gelagert bleiben (Fig. 33). Die völlig voneinander getrennten Chromosomen der Tochterplatten haben eine sehr charakteristische Gestalt: sie sind langgestreckt in der Richtung der Spindelfasern und am Polende hakenförmig umgeschlagen (Fig. 34).

Die Rekonstruktion der Tochterkerne beginnt mit einer dichteren Zusammenhäufung der Chromosomen unter Verlust ihrer langgestreckten Gestalt (Fig. 35). Dann beginnen die Chromosomen in einzelne kürzere und längere Stücke zu zerfallen (Fig. 35, 36). Die immer kleiner werdenden Bruchstücke gruppieren sich zu einem eiförmigen Gebilde und werden zu dem Chromatin des Netzwerks im ruhenden Tochterkern, der mit der Bildung einer Kernmembran

völlig fertiggestellt ist (Fig. 36, 37). Nach kurzer Ruhe beginnt die Teilung von neuem.

Bisher habe ich das Verhalten der achromatischen Figur bei der Mitose ganz außer Betracht gelassen, und zwar deshalb, weil ich hierfür in verschiedenen Präparaten und bei verschiedenen Fixierungen außerordentlich verschiedene Bilder bekam. In den mit dem Gemisch von Schaudinn und Carnoy fixierten Cysten stellten sich die Verhältnisse so dar, wie sie in den Fig. 23—37 wiedergegeben sind. Am ruhenden Kern findet man entweder nichts von Strahlungen oder nur undeutliche, verschwommene Plasmaverdichtungen, die etwa den ganz frühen Strahlungsanlagen am ursprünglichen Kern entsprechen. Die Spindeln haben stumpfe, abgerundete oder direkt quer abgeschnittene Pole. Die von Pol zu Pol ziehenden Spindelfasern sind deutlich ausgeprägt. An den Polen finden sich meist kappenartige Plasmaanhäufungen, die den bei Rhizopoden bekannten Polkappen nicht unähnlich sind (Fig. 33, 34). Eine Plasmastrahlung ist kaum zu erkennen.

Von den beschriebenen Verhältnissen finden sich weitgehende Abweichungen auch in Präparaten, die völlig gleich behandelt sind. So finden sich gelegentlich Spindeln mit zugespitzten Polen und einer deutlichen Protoplasmastrahlung. Am auffälligsten sind aber die Abweichungen in Präparaten, die mit Pikrinessigsäure fixiert waren. An der Oberfläche des ruhenden Kernes liegt eine schön entfaltete, weit ins Protoplasma hinausreichende Strahlung (Fig. 55). Fig. 56 zeigt die Teilung einer Strahlung mit gut ausgebildeten zentralen Verdichtungen und einer deutlichen, scharf begrenzten Zentralspindel. Einen Kern mit zwei gut entwickelten Strahlungen gibt Fig. 57 wieder. Auffällig sind bei diesen Bildern auch die Anhäufungen färbbarer Substanz im Zentrum der Strahlungen, die man in dem einen Falle (Fig. 56) ohne weiteres als Centrosomen ansprechen möchte, während sie bei den übrigen Bildern wohl eine solche Bezeichnung wieder nicht verdienen. Bei dieser Gelegenheit will ich auch auf die Fig. 54 aufmerksam machen, die eine an der Peripherie des ursprünglichen Kernes gelegene erste Spindel darstellt und in ihrer ganzen Ausbildung eine weitgehende Verschiedenheit von der etwa dem gleichen Stadium angehörenden Fig. 6 aufweist. Bei allen den zuletzt besprochenen Bildern ist zu beachten, daß die chromatischen Elemente des Kernes völlig unbrauchbar fixiert sind.

Durch die fortgesetzten Kernteilungen wird eine große Anzahl von Kernen gebildet, die über das ganze Protoplasma gleichmäßig

verteilt sind. Dabei wird die Größe der Kerne nach und nach verkleinert, aber bei weitem nicht in dem Maße, in dem die Zahl der Kerne vergrößert wird. Die Abnahme der Kerngröße kommt sehr

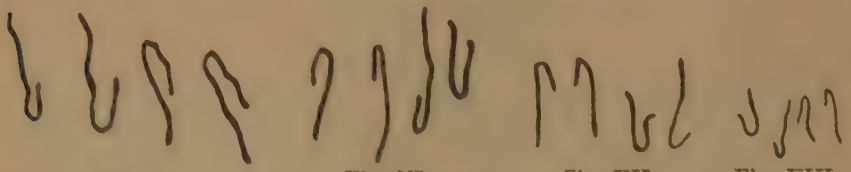


Fig. V. Fig. VI. Fig. VII. Fig. VIII.

deutlich zum Ausdruck in der Chromosomengröße auf verschiedenen Stadien. Die Fig. V—VIII zeigen bei gleicher Vergrößerung die Chromosomen einer ersten Teilung, einer letzten Teilung und zweier dazwischen liegender Stadien.

3. Reifeteilungen.

In einem bestimmten Zeitpunkt sind die Vermehrungsteilungen in jedem Tier der Cyste beendet, und es beginnt die Ausbildung der Gameten. Diese Gametenbildung tritt gewöhnlich an dem einen Tier der Cyste etwas früher ein als an dem anderen, wie das auch an der lebenden Cyste deutlich zu verfolgen ist. Wenn nun in einer Cyste das eine Tier schon Gameten gebildet hat, in dem anderen aber noch Kernteilungen stattfinden (Fig. 61), so kann man mit Sicherheit behaupten, daß diese Kernteilungen die letzten vor der Gametenbildung sind. Die Teilungen verdienen eine besondere Beachtung, da sie als Reifeteilungen anzusehen sind.

Schon bei oberflächlicher Betrachtung von Gregarinen, die sich auf dem Stadium der letzten Kernteilungen befinden, macht sich insofern eine Abweichung von dem bisherigen Verlauf der Kernvermehrung geltend, als man auffällig viele Kernteilungsfiguren zu Gesicht bekommt. Das läßt entweder auf eine Verlangsamung im Ablauf der Mitose oder auf eine Erhöhung der Teilungsfrequenz schließen, jedenfalls aber auf ein abweichendes Verhalten. Zahlenmäßig kommt diese Beobachtung darin zum Ausdruck, daß bei Zählung von über 1000 Kernen der Vermehrungsperiode und ebenso vielen der Reifeteilungen sich folgende Zahlenverhältnisse ergeben: Bei den Vermehrungsteilungen finden sich 92 Proz. ruhende Kerne, 2 Proz. Äquatorialplatten und 6 Proz. Ana- und Telophasen; bei den Reifeteilungen sind 84 Proz. ruhende Kerne, 7 Proz. Äquatorialplatten und 9 Proz. Ana- und Telophasen.

Da die Periode der Vermehrungsteilungen ohne weiteres in die der Reifeteilungen übergeht, ist es nicht möglich, eine scharfe Grenze zwischen Vermehrungsteilungen und Reifeteilungen abzustecken. Das erschwert die Feststellung des Verlaufes einer Reifeteilung, der nur aus der richtigen Kombination zahlreicher Beobachtungen erschlossen werden kann.

Die Reifeteilungen treten uns als solche am deutlichsten entgegen in der Anaphase, bei der jeder Tochterpol vier Chromosomen, also die reduzierte Zahl aufweist, wie dies in den Fig. 48—53 dargestellt ist. Zugleich sieht man, daß in der frühen Anaphase (Fig. 48—50) die Chromosomen der einen Tochterplatte einen Zusammenhang mit den entsprechenden der anderen aufweisen. Hieraus kann man schließen, daß schon in der Äquatorialplatte die reduzierte Zahl vorhanden ist. Nun fand ich aber bei der Durchsicht einer großen Anzahl von Äquatorialplatten niemals solche mit vier Chromosomen, sondern stets mit der Normalzahl acht (Fig. 39). Diese Tatsache, zusammengefaßt mit dem oben aufgestellten Postulat der reduzierten Zahl vor der Anaphase, läßt nur den einen Ausweg, daß die Reduktion kurz vor Beginn des Auseinanderweichens geschieht und zwar so, daß eine Gruppierung der acht Chromosomen zu je zweien erfolgt, bei der die acht Chromosomen aber getrennt erhalten bleiben. Diese Auffassung wird gestützt durch Bilder, wie sie in den Fig. 40—46 dargestellt sind; man erkennt Paare von je zwei Chromosomen in verschiedener Anzahl, die einander parallel gelagert sind, ohne jedoch miteinander zu verschmelzen. Beim Auseinanderweichen entfernen sich zunächst die hakenförmig umgeschlagenen Enden voneinander, ganz wie bei den Vermehrungsteilungen, während die anderen Enden noch länger miteinander in Verbindung bleiben. So entstehen die oben besprochenen Bilder der frühen Anaphase. Fig. 47 zeigt die Enden der Chromosomen in der Äquatorialplatte noch deutlich parallel; die Fig. 48—50 scheinen allerdings noch eine endweise Vereinigung der einander entsprechenden Chromosomen zu beweisen; ob diese wirklich stattfindet oder nur eine Fixierungswirkung ist, ist schwer zu entscheiden und auch wohl ohne Belang.

Ob vor oder nach der beschriebenen Reduktionsteilung eine zweite Reifeteilung stattfindet, konnte ich nicht feststellen. Es ist natürlich nicht unmöglich, daß das eine oder andere der angeführten Bilder z. B. einer der Reduktionsteilung folgenden Äquationsteilung angehört. Doch würde dadurch meine Darstellung von der Reduktionsteilung nicht beeinträchtigt.

Da natürlich die Elemente der Kerne auf dem besprochenen Stadium schon recht klein sind, erscheint es geboten, in der Auffassung und Deutung der Bilder vorsichtig zu sein. So kann man vielleicht bei den Bildern von der Parallellagerung der Chromosomen manches für zufällig und durch die engen Raumverhältnisse erklärlich halten, wenn auch die letzten dieser Bilder eine solche Deutung wohl kaum zulassen. Auf alle Fälle bleibt aber das tatsächliche Vorhandensein einer zahlenmäßigen Chromosomenreduktion bestehen.

4. Gameten, Copulation und Sporocyste.

Nach Ablauf der Reifeteilungen erfolgt die Bildung der Gameten. An der lebenden Cyste beobachtet man zu dieser Zeit, daß tiefe Furchen und Einkerbungen den Körper der Gregarine überziehen und ihm ein unregelmäßig gelapptes Aussehen verleihen. In Schnittpräparaten kommt dieser Vorgang in einer starken Lappung und Zerlegung des ganzen Protoplasmas zum Ausdruck. Fig. 61 zeigt diese Erscheinung für ein, Fig. 62 für beide Individuen der Cyste. An der somit stark vergrößerten Oberfläche der ganzen Gregarine findet nun die Abschnürung der Gameten statt, in derselben Weise, wie es schon für zahlreiche andere Gregarinen des öfteren beschrieben ist.

Die Gameten sind kugelig und besitzen einen ebenfalls kugeligen Kern (Fig. 64). Ein Unterschied zwischen den Gameten der beiden encystierten Tiere ist nicht zu erkennen. Haben sich die Gameten von beiden Tieren abgelöst, so sammeln sie sich in einem kalottenförmigen Raume der Cyste, während der gemeinsame Restkörper den übrigen Cystenraum einnimmt (Fig. 63). Hier erfolgt nun die Copulation je zweier Gameten, die nichts besonders Beachtenswertes bietet (Fig. 65).

Die Copulae finden sich später unter der ganzen Oberfläche der Cyste, während der Restkörper eine zentrale Kugel bildet. Die Umbildung zur fertigen Sporocyste erfolgt in der bekannten Weise: die Copula streckt sich in die Länge und nimmt die doppelkegelförmige Gestalt der späteren Sporocyste an (Fig. 66); dann scheidet sie die Sporocystenmembran aus. Ein dreimaliger Teilungsprozeß des Kernes liefert 8 Kerne, entsprechend den 8 Sporozoiten der reifen Sporocyste (Fig. 67).

II. Allgemeiner Teil.

Wie die zahlreichen Untersuchungen über die Fortpflanzung der Gregarinen in großen Linien immer wieder das gleiche Bild vom Lebenscyclus der typischen Gregarine entwerfen, so findet sich auch für viele Einzelheiten eine weitgehende Übereinstimmung in den Angaben der Autoren. Was speziell die Vorgänge in der Cyste betrifft, so wird für fast alle näher untersuchten Arten berichtet, daß die Kerne der Gameten gebildet werden durch eine große Reihe von Kernteilungen, die sich ableiten von einer einzigen ersten Spindel. Ja, dieser Entstehungsgang der Gametenkerne findet sich außer bei den typischen Gregarinen auch noch weit verbreitet bei den Aggregaten. Moroff findet in der Sporogonie einer ganzen Reihe der von ihm untersuchten Aggregaten eine erste Spindel, in anderen Fällen kann er mit großer Wahrscheinlichkeit auf ihr Vorhandensein schließen. Auch in den Fällen, in denen die Kernteilungen (besonders bei der Bildung der Microgameten) kaum mehr als Mitosen anzusprechen sind, ist die Möglichkeit gegeben und auch von Moroff für wahrscheinlich gehalten, daß der die Teilungen beherrschende Teilungsapparat, die Centriolen, durch sukzessive Teilungen aus einem Centriol abzuleiten ist. Es würden also hier nur die Teilungen des Teilungsapparates den Kernteilungen vorausgeeilt sein, wie das ja, wenn auch in geringerem Maße, bei allen von Moroff untersuchten Objekten vorkommt.

Es scheint sich somit hier um einen in der Sporogonie der Gregarinen allgemeinen und für sie charakteristischen Vorgang zu handeln. Unter den typischen Gregarinen sind bisher nur zwei Ausnahmen von dieser Regel bekannt geworden, die Angaben von Berndt (1902) und Kuschakewitsch (1907) für die Gregarinen des Mehlwurmdarms. Berndt spricht davon, daß nach Auflösung des ursprünglichen Kernes durch eine Art multiple Teilung, die zur Cystenperipherie wandernden Kernstücke „auf dem Wege zur Peripherie“ sich durch primitive Mitosen vermehren. Da liegt die Vermutung sehr nahe, daß hier nur die erste Mitose nicht zur Beobachtung gekommen, besonders wenn man bedenkt, daß dieses Stadium offenbar außerordentlich schnell abläuft und von vielen Autoren, trotz eines großen Materials, gar nicht oder nur lückenhaft beobachtet ist.

Die Angaben von Kuschakewitsch lassen eine solche Deutung nicht zu und bleiben in ihrer isolierten Stellung. Der Kern soll

sich an die Oberfläche begeben und sich hier in eine periphere Chromidialzone auflösen. Aus dieser sollen sich wieder Kerne verdichten, die nach einer zweimaligen Teilung die Gametenkerne liefern. Léger und Duboscq (1909) haben, um sich über diese von allem bisher Bekannten so weit abweichenden Angaben Klarheit zu verschaffen, mehrere verschiedene Formen aus der Familie der Clepsidriniden (darunter auch solche aus dem Mehlwurmdarm) untersucht und kommen bei allen zu dem übereinstimmenden Resultat, daß auch hier eine erste Spindel gebildet wird; diese konnten sie zwar nicht direkt beobachten, wohl aber Stadien mit wenigen großen Kernen, „qui donnent toujours par mitoses successives les noyaux sexuels". Die genannten Autoren kommen daher zu dem Schluß, „que la phase chromidiale de Kuschakewitsch est erronée".

1. Entstehung der ersten Teilungsspindel.

Wenn es auch wohl als sehr wahrscheinlich gelten darf, daß bei allen typischen Gregarinen eine erste Spindel gebildet wird, so herrscht doch in der Art, wie diese Spindel gebildet wird, durchaus keine Übereinstimmung. Gemeinsam ist allen Darstellungen, daß der bei weitem größte Teil des ursprünglichen Kernes aufgelöst wird und nur ein kleiner Teil des Chromatins bei der ersten Mitose Verwendung findet. Übereinstimmend wird ferner berichtet, daß die Auflösung der großen Masse des Chromatins hauptsächlich in einem Zerfall des oder der Nucleolen zum Ausdruck kommt. Da uns der Chemismus solcher Auflösungsprozesse noch unbekannt ist, hat es keinen Wert, die verschiedenen von den Autoren beschriebenen morphologischen Auflösungsbilder hier zusammenzustellen. Sie führen alle zum gleichen Endresultat, zum früheren oder späteren Verschwinden des färberisch nachweisbaren Chromatins mit Ausnahme dessen, das in die Vermehrungsteilungen eingeht.

Die Absonderung dieses Chromatins, das man wohl als Idiochromatin ansehen kann, aus dem ursprünglichen Kern ist für verschiedene Objekte verschieden beschrieben. Einige Autoren beschreiben, daß sich zunächst in oder außerhalb des großen Kernes ein neuer, kleiner teilungsfähiger Kern bildet, der allein das Idiochromatin enthält. Dieser „generative" Kern, der sich zunächst in Ruhe befindet, bildet selbständig, ohne Beteiligung des zerfallenden alten Kernes, seinen Teilungsapparat und liefert die erste Spindel. Als Beispiel für diesen Fall mag die Darstellung von Léger und Duboscq (1909) für *Nina gracilis* gelten. Wenn hier auch die Herkunft

des teilungsfähigen Kernes nicht durchaus lückenlos festgestellt ist, so läßt doch das eine abgebildete Stadium (Taf. 1, Fig. 12) keinen Zweifel zu, daß hier tatsächlich zunächst ein ruhender erster Teilungskern gebildet wird.

Anders verläuft der Vorgang bei dem von mir untersuchten Objekt. Der Teilungsapparat für die erste Mitose wird von dem großen ursprünglichen Kern geliefert, das Idiochromatin tritt in Gestalt von Chromosomen direkt in die fertige erste Spindel ein. Dieser Modus liegt wohl bei den meisten näher untersuchten typischen Gregarinen vor, so weit man das nach den gewöhnlich nur spärlichen Abbildungen und Angaben über diese Stadien beurteilen kann. Jedenfalls gehören hierher die Darstellungen von Cuenot (1901) für Regenwurmmonocystideen, von Brasil (1905) für das gleiche Objekt, von H. Lyndhurst Duke (1910) für *Metamera schubergi* u. a. Auch bei allen von Moroff untersuchten Aggregaten werden Chromosomen und Teilungsapparat der ersten Spindel direkt vom alten Kern geliefert.

Zum Vergleich sei hier auch noch die Darstellung herangezogen, die Léger und Duboscq (1908) für die Entstehung der ersten Spindel bei der Schizogonie von *Aggregata Eberthi* geben. Hier tritt das Idiochromatin im usprünglichen Kern in Form von Chromosomen auf. Diese ballen sich zusammen, werden von einer Membran umgeben und liefern so einen zunächst zur Ruhe übergehenden Teilungskern, der erst später wieder Chromosomen bildet und in die erste Teilung eintritt.

Es liegt sehr nahe, die ganze Bildung der ersten Spindel zu vergleichen mit der Bildung der ersten Richtungsspindel im Metazoenei; das ist denn auch schon von verschiedenen Autoren geschehen. Es handelt sich ja hier auch nicht nur um eine gewisse Ähnlichkeit der morphologischen Bilder, sondern, wie Léger und Duboscq (1908) und Moroff (1907) des näheren ausführen, um weitgehende physiologische Parallelen, die zwischen der Gregarine und dem Metazoenei bestehen. Das ungeheure Wachstum und die starke Reservestoffspeicherung einer Gregarine entspricht durchaus dem Wachstum und der Dotterbildung der Oocyte. Deshalb glaubt sich auch Moroff berechtigt, seine bei den Aggregaten gewonnenen Anschauungen über die Physiologie des Zellkernes ohne weiteres auf das Metazoenei zu übertragen.

Léger und Duboscq (1908) wollen bei der Ausbildung der mitotischen Figur einen Unterschied zwischen Gregarinen und Metazoenei daraus konstruieren, daß bei den Gregarinen das Idiochromatin

zunächst in Form eines ruhenden Geschlechtskernes, vergleichbar dem Micronucleus der Infusorien, abgetrennt werde, eines Kernes, der dann seinerseits erst die achromatische Teilungsfigur bilde und so zum Ausgangspunkt der Vermehrungsteilungen werde. Sie suchen daher verschiedene Angaben älterer Autoren in diesem Sinne zu deuten. Daß eine solche Anschauung für manche Objekte zutrifft, ist schon gesagt. Da aber andere Formen, wie z. B. die *Monocystis rostrata*, sich auch hierin wie ein Metazoenei verhalten, kann man hier keinen prinzipiellen Unterschied konstruieren.

2. Bildung der Chromosomen.

In den Bildern, die von der Bildung der Chromosomen bei Gregarinen bekannt sind, macht sich vielfach ein auffälliger Zusammenhang der entstehenden Chromosomen mit dem oder den Nucleolen geltend. Auch für Metazoeneier ist ein inniger Zusammenhang zwischen Nucleolen und Chromosomen verschiedentlich beschrieben, aber aus theoretischen Gründen auch lebhaft bekämpft worden. Da man wohl annehmen kann, daß der Gregarinennucleolus, ebenso wie der des Metazoeneies, nicht idiochromatischer Natur ist, würde auch bei den Gregarinen eine direkte Entstehung der Chromosomen aus Nucleolen theoretischen Schwierigkeiten begegnen. Nun sind aber gerade für Gregarinen verschiedene Fälle bekannt geworden, in denen die Chromosomen zwar ganz unabhängig vom Nucleolus entstehen, dann aber nachträglich in eine enge Beziehung zu ihm treten. Nach Léger und Duboscq (1908) entstehen bei *Aggregata Eberthi* die Chromosomen zunächst als schwach färbbare Fäden frei im Caryoplasma und sammeln sich dann zu einem Knäuel in der Nähe des Nucleolus. Darauf entsteht aus dem Nucleolus ein zweites, stark färbbares Fadensystem, das sich unter das erste mischt, an dieses seine Färbbarkeit verliert und schließlich wieder verschwindet. Das so entstandene Fadenknäuel stellt das endgültige Idiochromatin dar. Moroff (1908) beschreibt mehrere Fälle einer Art „Ernährung“ der Chromosomen aus den Nucleolen. Die Chromosomen, die frei im Kernraum entstehen, erhalten bei ihrem Wachstum neue chromatische Substanz aus den Nucleolen. Solche Vorgänge bieten wohl keine theoretischen Schwierigkeiten, sobald man nicht gerade das Chromatin als Vererbungsträger im Chromosom ansieht. Auch die von mir gegebenen Bilder müssen ja nicht notwendig auf ein „Auswachsen“ der Chromosomen aus den Nucleolen schließen lassen, sondern können auch, im Einklang mit den er-

wähnten Fällen, ein Beladen der Chromosomen mit Chromatin und eine zu diesem Zweck geschehene örtliche Zusammenlagerung darstellen.

Ein Zusammenknäueln der Chromosomen, wie es bei der *Monocystis rostrata* vor dem Eintritt in die Spindel erfolgt, scheint bei Gregarinen weit verbreitet zu sein. Wir haben die Erscheinung auch wohl in dem „micronoyau" von Cuénot vor uns. Léger und Ducoscq beschreiben sie, wie schon erwähnt, für *Aggregata Eberthi*. In Moroff's Bildern finden sich sehr häufig Zusammenballungen der zunächst zerstreuten Chromosomen vor Eintritt in die erste Spindel.

3. Die „Strahlungen".

Wie ich schon im speziellen Teil kurz erwähnt habe, sprechen die Bilder von der Entstehung der Strahlungen bei der *Monocystis rostrata* entschieden für eine rein protoplasmatische Herkunft der Strahlungen und der aus diesen gebildeten ersten Spindel. Bei den zahlreichen Stadien mit zwei Strahlungen am ursprünglichen Kern, die mir zu Gesicht gekommen sind, war stets die Strahlung nach dem Kern zu scharf abgesetzt, wie das auch in den wenigen gezeichneten Fällen zum Ausdruck kommt. Dagegen erstreckt sich die Wirkung einer Strahlung offenbar auch in den Kern hinein. In diesem Sinne habe ich schon oben die Fig. 8 u. 9 gedeutet. Ferner macht sich in vielen Fällen deutlich eine Neigung der chromatischen Elemente des Kernes bemerkbar, sich den Strahlungen zu nähern. Für die Chromosomen ist das stets der Fall kurz vor Ausbildung der ersten Spindel; doch kann, wie Fig. 2 zeigt, ein Hinstreben der Chromosomen zur Strahlung schon auf viel früherem Stadium erkennbar sein. Nicht selten findet man die zahlreichen, sich auflösenden kleinen Nucleolen in der Nähe der Strahlungen stärker angehäuft. Alle diese Beobachtungen stehen in gutem Einklang mit der kürzlich von Buchner (1910) näher ausgeführten Anschauung, daß den Centriolen oder Centrosomen ganz allgemein die Fähigkeit zukommt, einen richtenden Einfluß auf das Chromatin des Kernes auszuüben.

Wenn ich auch unter meinen zahlreichen Präparaten von Strahlungen niemals einen Kern mit nur einer Strahlung gefunden habe, so schließt das natürlich noch nicht aus, daß ein solches Stadium, in Analogie mit vielen anderen Fällen, doch vorhanden ist. Man müßte dann allerdings annehmen, daß die Teilung der Anlage schon auf einem sehr frühen Stadium erfolgt, noch bevor sie im

Präparat sichtbar wird, und daß die Teilungsprodukte mitunter recht weit auseinanderrücken; denn man findet ja nicht selten Kerne mit zwei Strahlungen an diametral entgegengesetzten Polen. Auf dieses Auseinanderrücken würde dann wieder ein Zusammenrücken zur Bildung der ersten Spindel folgen. Für einen einheitlichen Ursprung beider Strahlungen spricht ja sehr, daß sie sich stets auf der gleichen Stufe der Ausbildung befinden; doch ist hierfür auch nur ein zeitlich, nicht aber auch örtlich einheitlicher Ursprung notwendig.

Und nun noch die Frage: In welchem Verhältnis stehen die Gebilde, die ich bisher mit dem indifferenten Namen „Strahlungen" bezeichnet habe, zu den Centrosomen, Centriolen, Sphären usw. anderer Objekte? Bei den Gregarinen finden sich einerseits, von verschiedenen Autoren beschrieben, echte, punktförmige, scharf umschriebene Centriolen; andererseits kennt man aber auch vielfach Spindeln, bei denen keinerlei derartige Bildungen zu finden, nach der ganzen Art der Spindel auch gar nicht zu erwarten sind. Daneben trifft man in der Literatur auf die verschiedensten hierher gehörenden Gebilde, die als sphères attractives, cônes attractifs, Attraktionskegel usw. von den Autoren bezeichnet werden. Auf das Vorhandensein eines Centriols bei Protozoen wird neuerdings von Hartmann und seinen Schülern großer Wert gelegt, ja es wird das Centriol als ein zweiter Kern für die Protozoenzelle ganz allgemein postuliert.[1]) Für Amöben, die den genannten Autoren vielfach als Objekt dienten, wird die Unrichtigkeit dieser Auffassung in ihrer extremen Form durch eine demnächst erscheinende Arbeit von H. Gläser gezeigt werden. Für Gregarinen hat Moroff (1907) auch diese Frage bereits eingehend erörtert. Nach seiner Darstellung finden sich innerhalb der Gruppe der Aggregaten nebeneinander Formen mit typischen Centriolen und andere ohne irgendwelche centrosomen- oder centriolenartige Gebilde. Bei meinem Objekt bin ich in dieser Frage zu keiner endgültigen Entscheidung gekommen. Zunächst ist es hinderlich, daß in den mit Sublimatgemischen fixierten Präparaten, die für die Veränderungen der chromatischen Elemente gute Bilder geben, die achromatischen Figuren, besonders in den zwischen den Mitosen liegenden Stadien,

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Inzwischen hat Hartmann seine Anschauung in dieser Frage geändert; er sagt: „Die Doppelkernigkeit ist mithin keine allgemeine Eigenschaft jeder Zelle, wie wir früher annahmen, sondern findet sich nur bei einem kleinen Teil der Protozoen." M. Hartmann, Die Konstitution der Protistenkerne und ihre Bedeutung für die Zellenlehre. Jena 1911.

völlig unbrauchbar fixiert sind. Andererseits zeigen die Kerne in Pikrinessigsäurepräparaten, in denen die achromatischen Strukturen vorzüglich erhalten sind, deutliche Spuren von Schrumpfungen und Zerreißungen im Innern, wodurch eine Vergleichung mit entsprechenden gut fixierten Stadien erschwert wird. Man müßte also aus einer großen Zahl gut erhaltener Bilder von der achromatischen Figur durch richtige Seriierung die cyclischen Veränderungen dieser Elemente erschließen. Das mir vorliegende Material, das für diesen Zweck in Betracht kommt, ist aber nicht umfangreich genug, besonders, weil sich scheinbar in verschiedenen Stadien der fortschreitenden Kernteilungen noch Verschiedenheiten ergeben. Ich muß mich daher darauf beschränken, einige charakteristische Bilder anzuführen, wie sie in den schon im speziellen Teil besprochenen Figuren 54—57 zur Darstellung kommen. Da hat man einerseits Strahlungszentren, die auch nicht eine Spur eines färbbaren Einschlusses enthalten (Fig. 54) und daneben in demselben Präparat Strahlungen mit auffällig großen, aber völlig unregelmäßig gestalteten Einschlüssen (Fig. 55, 57). Nur ein Bild ist mir zu Gesicht gekommen, in dem die zentralen färbbaren Gebilde eine einigermaßen regelmäßige Gestalt aufweisen (Fig. 56). Jedenfalls gewinnt man aber den Eindruck, daß es sich in den weitaus meisten Fällen bei den färbbaren Gebilden um Erscheinungen handelt, die nach ihrer ganzen Lagerung und Gestalt den Gedanken an Centriolen oder Centrosomen im üblichen Sinne nicht zulassen. Ich darf aber nicht unerwähnt lassen, daß ich gelegentlich in Copulae nach erfolgter Kernverschmelzung Körperchen fand, die man wohl unbedingt als ruhende Centriolen ansprechen muß. Fig. 72 zeigt derartige Copulae, bei denen mit großer Regelmäßigkeit zwei kleine Körnchen wiederkehren, die stets zwischen dem Kern und der Oberfläche des Protoplasmas gelegen sind.

Die angeführten Beispiele vom Vorhandensein und Nichtvorhandensein von Centrosomen oder Centriolen könnte man aus der Gregarinenliteratur leicht noch bedeutend vermehren. Für die ganze Erscheinung ist wohl die richtigste Erklärung die, die auch Moroff bei seinen Aggregaten anwendet: das Centriol ist ein sekundäres, untergeordnetes Gebilde, das vorhanden sein kann, nicht aber ein für den Verlauf der Mitose notwendiges „Teilungsorgan“ darstellt. Vorhanden sind bei der Mitose unter allen Umständen zwei, ihrer Natur nach uns nicht näher bekannte Kraftzentren, deren Wirkungen in den uns allein zugänglichen morphologischen Bildern in der allerverschiedensten Form zum Ausdruck kommen; zu diesen morpho-

logischen Erscheinungsformen gehört auch das Centriol als ein besonders bei Metazoen häufiger Fall. Mit einer solchen Auffassung ist natürlich unvereinbar die Hartmann'sche von der Kernnatur des Centriols.

4. Vermehrungsteilungen und somatische Kerne.

Die Vermehrungsteilungen, die vom ersten Kern zu den Gametenkernen führen, sind für alle genauer untersuchten Gregarinen als wohl ausgebildete Mitosen beschrieben, die zwar in der achromatischen Figur weitgehend verschieden sein können, meistens aber darin übereinstimmen, daß sie große, deutliche Chromosomen in geringer Anzahl enthalten. Über die Beschaffenheit der Spindelpole ist schon im vorigen Abschnitt gehandelt. Sehr häufig werden für ein und dasselbe Objekt verschiedene Teilungsmodi unterschieden. Auch für mein Objekt habe ich weitgehende Abweichungen von dem typischen Verlauf der Mitose erwähnt. Ich halte es aber nicht für berechtigt, solchen Abweichungen eine größere Bedeutung beizumessen und sie als besondere „Teilungsmodi" hinzustellen; sie sind wohl hinreichend erklärt mit geringfügigen Verschiedenheiten in der Konstitution der Kerne, und bei den Teilungsfiguren handelt es sich doch nur um verschiedene Erscheinungsformen eines und desselben Vorganges, eben der mitotischen Kernteilung, die ebensowenig wie viele andere Vorgänge in der Natur an ein bestimmtes Schema fest gebunden ist.

Verschiedene Autoren machen bei den sich vermehrenden Kernen einen Unterschied zwischen zwei Gruppen, die sie als somatische und generative Kerne bezeichnen und für die sie auch zum Teil verschiedene „Teilungsmodi" beschreiben. Auch ich habe auf vorgerückteren Stadien der Vermehrungsteilungen meistens recht erhebliche Größenunterschiede in den Kernen gefunden, die wohl darauf schließen lassen, daß sich manche Kerne wesentlich langsamer geteilt haben als andere. Darin ist aber kein prinzipieller Unterschied zwischen zwei Kerngarnituren zu erblicken, denn erstens finden sich alle Zwischenstufen von kleinen zu großen Kernen, und zweitens bleiben bei meinem Objekt gar keine sog. „somatischen" Kerne im Restkörper zurück. Wohl bleiben im Restkörper allerhand chromatische Gebilde, die aber offenbar degenerierende, nicht zur Gametenbildung gekommene Kerne darstellen. In diesem Sinne faßt auch Cuénot (1901) die „somatischen" Kerne auf, als „noyaux qui n'ont pas évolué en temps utile", im Gegensatz zu Léger (1904)

der bei *Stylorhynchus longicollis* schon von frühen Stadien an eine scharfe Grenze zwischen somatischen und generativen Kernen gezogen wissen will.

Das Vorkommen wirklicher somatischer Kerne scheint nicht unwahrscheinlich bei Gregarinen, bei denen der Restkörper nach Abgabe der Gameten noch irgendwelche Lebensäußerungen zeigt, sei es, daß er durch lebhafte Bewegungen die Gameten durcheinander wirbelt, sei es, daß er Sporodukte oder andere Bildungen erzeugt.

5. Reifeteilungen.

Die Frage nach der Reduktion bei Gregarinen ist in vielen Arbeiten aufgeworfen und in recht verschiedenem Sinne beantwortet worden. Der große Chromatinverlust bei der Auflösung des ursprünglichen Kernes ist zwar wiederholt als eine Reduktion bezeichnet worden, doch bemerken die meisten Autoren dazu, daß es sich nicht um eine Reduktion im Sinne der bei Reifeteilungen erfolgenden Reduktion der Chromosomen, sondern um eine „Chromatinreduktion", eine épuration, um eine Scheidung von Idiochromatin und Trophochromatin handle. Als wirkliche Reduktionserscheinungen werden dagegen von manchen Autoren Ausstoßungen von Chromatinkörnern oder Nucleolen aus dem Kern der Gameten gedeutet; nach unseren ganzen Kenntnissen über Reduktionserscheinungen sind diese Deutungen sehr unwahrscheinlich.

Eine Reduktion in Gestalt einer Reifeteilung beschreibt Paehler (1904) für die Gameten der *Gregarina ovata* vor der Copulation. Léger und Duboscq (1909) finden in den Gameten der *Gregarina Munieri* zwei Reifeteilungen, können aber ebensowenig wie Paehler Einzelheiten dieser Teilungen beobachten. Die Vermutung, die die letztgenannten Autoren in der gleichen Arbeit aussprechen, daß man wohl bei den meisten Gregarinen die Reduktion in den letzten Teilungen vor der Abschnürung der Gameten zu suchen habe, hat sich bei meinem Objekt als richtig erwiesen. Daß es mir nicht möglich ist, zu entscheiden, ob eine oder zwei Reifeteilungen vorliegen, habe ich schon oben auseinandergesetzt. Nach der Deutung, die ich für das Zustandekommen der Reduktion versucht habe, handelt es sich, wie auch in den anderen für Protozoen bekannt gewordenen Fällen einer zahlenmäßigen Reduktion, um eine Art Primärtypus, verbunden mit einer sehr spät erfolgenden Pseudoreduktion. Es entspricht dieser Fall noch durchaus der Auffassung vieler Autoren, daß die Reduktionsteilung einen Vorgang darstellt,

der die Chromosomenzahl halbiert und sich dabei des Mechanismus der Mitose bedient. Die Anhänger dieser eumitotischen Reduktion verlangen daher für alle Reduktionsteilungen die Längsspaltung der Chromosomen. Den vorliegenden Fall kann man nun insofern als eumitotisch bezeichnen, als durch die paarweise Parallellagerung der Chromosomen ein Zustand erzeugt wird, der bei einer Mitose mit der halben Chromosomenzahl durch Längsspaltung hervorgerufen würde.

6. Gameten und Gametendimorphismus.

Die Vorgänge, die sich bei der Gametenbildung und bei der Befruchtung abspielen, haben stets ein besonderes Interesse gefunden. Siedlecki stellte ursprünglich die Gregarinen als isogam den anisogamen Coccidien gegenüber. Als dann mehr und mehr Fälle von mehr oder minder ausgeprägter Anisogamie auch bei Gregarinen bekannt wurden, legten die Autoren doch dem Vorhandensein oder Fehlen eines geschlechtlichen Dimorphismus eine große Bedeutung bei und suchten die reine Isogamie wenigstens für gewisse Gruppen von Gregarinen als Charakteristikum zu retten. Heute fügen sich die zahlreichen bekannt gewordenen Fälle zu einer schönen Reihe aneinander, die von reiner Isogamie zu hochentwickelter Anisogamie, ähnlich der der Coccidien, führt. Es liegt nun sehr nahe, diese morphologische Reihe phylogenetisch zu deuten. Dabei hat man wohl im allgemeinen, stillschweigend oder ausdrücklich, die hochentwickelte Anisogamie als Endglied einer von der Isogamie aufwärts steigenden Entwicklungsreihe betrachtet. In ihrer zusammenfassenden Arbeit kommen Léger und Duboscq (1909) dagegen zu dem Schluß „à concevoir l'anisogamie comme primitive chez les Grégarines“ Sie nehmen an, daß sich von einem Zustand mittelmäßig starker Anisogamie, wie sie sich bei den Actinocephaliden und Menosporiden findet, einerseits durch „différenciation progressive“ eine hochentwickelte Anisogamie, andererseits durch „régression“ eine schwache Anisogamie und schließlich völlige Isogamie entwickelt haben. Es ist nun schwer einzusehen, warum man die bestehende Reihe in dieser Weise zerreißen soll, dagegen liegen verschiedene Gründe vor, die ganze Reihe als Ausdruck eines Rückbildungsprozesses anzusehen, wie im folgenden gezeigt werden soll.

Wenn irgendwo bei Protozoen ein hochgradiger Dimorphismus der Geschlechtsprodukte vorkommt, so nehmen wir wohl stets an, daß diese Einrichtung einem bestehenden Bedürfnis entspricht. Erstrebt wird in diesem Fall die Vereinigung der Geschlechtsprodukte;

je größere Hindernisse hierbei zu überwinden sind, um so vollkommener sind die getroffenen Einrichtungen, vor allem die Beweglichkeit der männlichen Geschlechtszellen. Die denkbar günstigsten Bedingungen für das Zustandekommen der Befruchtung sind aber geboten, wenn männliche und weibliche Geschlechtszellen nebeneinander in einem völlig abgeschlossenen Raum gebildet werden und auch hier zur Vereinigung kommen sollen. Dieser Fall ist in der Cyste der Gregarinen verwirklicht. Es bedarf hier keiner besonderen Vorrichtungen zum Aufsuchen des Partners für die Copulation, und in der Tat zeigen die Fälle von völliger Isogamie, daß die Befruchtung in erwünschter Weise eintritt. Wollte man solche Formen als ursprüngliche auffassen, so wäre schwer zu begreifen, was hier eine hohe Entwicklung von Gametendimorphismus veranlaßt haben sollte; dagegen ist es leicht erklärlich, daß ein einmal vorhandener Dimorphismus als unnötig rückgebildet und ganz verloren gegangen ist.

Dementsprechend trägt auch die Isogamie und die ihr nahestehende schwache Anisogamie manche Anzeichen der Rückbildung an sich. Nach Léger und Duboscq (1909) besitzen die männlichen Gameten der Clepsidriniden ein „flagelle sans mouvement propre, en régression, très éphémère". Eine solche Geißel, die nur angelegt wird und, ohne in Funktion getreten zu sein, wieder verschwindet, nennt man wohl am besten ein Rudiment. Die schwächste Andeutung eines Gametendimorphismus, die wir für Gregarinen kennen, ist ein Unterschied in den Kernen der männlichen und weiblichen Gameten, wie ihn Brasil (1905) für Monocystideen beschreibt. Der männliche Kern ist kleiner und dichter chromatisch, der weibliche größer und lockerer. Diese Erscheinung ist leicht zu erklären als Endglied einer Reihe, welche beginnt mit den, ähnlich den Spermatozoen der Metazoen, fast nur aus kompaktem Chromatin bestehenden männlichen Gameten der *Nina gracilis* (Léger und Duboscq 1909). Für die zwischen diesen beiden Endgliedern liegenden Fälle ist vielfach ebenfalls ein mehr oder minder starker Strukturunterschied in den Gametenkernen beschrieben. Als erste Stufe einer Entwicklung von Gametendimorphismus würden wir auch wohl nicht eine geringe Differenz in der Kernstruktur zu erwarten haben, sondern eine Umgestaltung des männlichen Gameten, die ihn leichter beweglich macht.

Betrachtet man die Verteilung der Isogamie und Anisogamie über die Gruppen der Gregarinen, so stellt sich heraus, daß bei Monocystideen Isogamie und schwache Anisogamie herrschen, während bei Polycystiden starke Anisogamie, daneben aber auch Isogamie

vorkommt. Die genannten beiden Gruppen stellen nun auch wohl im großen und ganzen phylogenetische Gruppen dar, wobei uns allerdings nicht die morphologischen Differenzen (Haftapparate usw.) leiten dürfen; denn solche Einrichtungen sind zu sehr dem jeweiligen Bedürfnis angepaßt. Dagegen ist der Aufenthalt der Parasiten wohl nicht ohne Bedeutung. Während die Polycystideen Darmparasiten sind, setzen sich die Monocystideen zum großen Teil aus Leibeshöhlen- und Gewebeparasiten zusammen. Ebenso wie wir das bei anderen parasitischen Gruppen des Tierreichs tun, können wir auch hier wohl die Darmparasiten, die Polycystideen, als die ursprünglichen Formen betrachten, von denen die Monocystideen abzuleiten sind. Das entspricht durchaus dem Vorkommen von Anisogamie und Isogamie, wenn man diese als Rückbildung betrachtet.

Schließlich soll noch auf einen Punkt hingewiesen werden, der wohl ebenfalls für einen Rückbildungsprozeß spricht. Fast stets verbindet sich die Kleinheit und Beweglichkeit der männlichen Geschlechtszellen mit einer starken Überproduktion im Vergleich zu der Zahl der weiblichen Geschlechtszellen. Ein solches Verhalten beschreiben Léger und Duboscq (1909) für *Nina gracilis*, bei der von allen bekannten Gregarinen der Gametendimorphismus am höchsten entwickelt ist; es werden alle Eier befruchtet und eine große Menge Spermatozoiden bleiben unverwandt. Da nun in einer allseitig abgeschlossenen Cyste das Zustandekommen der Befruchtung auch bei annähernd gleicher Zahl männlicher und weiblicher Gameten hinreichend gesichert ist, so ist es schwer verständlich, wie eine solche Überproduktion von Spermatozoiden sich entwickelt haben sollte; sehr erklärlich ist es aber, daß sie als überflüssig verloren gegangen ist. Es scheint nun gar nicht unmöglich, daß die sterilen Spermatozoiden, wie sie Léger (1904) für *Stylorhynchus* beschreibt und wie sie Léger und Duboscq (1909) noch für verschiedene andere Arten gefunden haben, Reste einer solchen ursprünglichen Überproduktion darstellen; damit wären diese ja recht seltsamen und schwer erklärlichen Gebilde wenigstens verständlich.

Wir können also wohl annehmen, daß die Stammformen der Gregarinen einen hochentwickelten Gametendimorphismus besaßen, und können daraus ohne weiteres schließen, daß bei diesen Formen die Befruchtung nicht in einer Cyste erfolgte. Das führt uns zu Formen, deren Fortpflanzungsverhältnisse ähnlich waren denen, die heute noch bei Aggregaten vorliegen. Auch einen anderen Charakter der Aggregaten müssen wir wohl als ursprünglich ansehen; das ist der Besitz einer Schizogonie und damit verbunden der Wirtswechsel

zwischen zwei verschiedenen Tiergruppen angehörenden Wirtstieren. So erklärte sich das völlige Fehlen einer ungeschlechtlichen Fortpflanzung bei Gregarinen, eine bei Protozoen recht isoliert dastehende Erscheinung, als eine Rückbildungserscheinung, verbunden mit dem Verlust des Wirtswechsels. Ob die bei Gregarinen vielfach vorkommende Lappung und Zergliederung des Restkörpers bei der Gametenbildung als ein Rudiment einer Schizogonie aufzufassen ist, wie Léger und Duboscq (1909) das wollen, erscheint sehr zweifelhaft; denn die gleiche Erscheinung findet sich bei Aggregaten, die ja eine Schizogonie besitzen; der Vorgang ist wohl hier wie dort lediglich als Oberflächenvergrößerung für die Unterbringung möglichst vieler Gameten anzusehen.

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit über eine merkwürdige Zwischenform *Selenococcidium* beschäftigen sich Léger und Duboscq (1910) eingehend auch mit der Frage nach der Abstammung der Gregarinen überhaupt und ihrer Stellung im natürlichen System. Sie kommen zu dem Schluß, daß die Gregarinen, wie das schon von Bütschli (1883—87) angenommen wurde, von flagellatenartigen Protozoen abstammen. Ganz neuerdings bestreitet Awerinzew (1910) diese Auffassung. Er meint, die Tatsache, daß bei Gregarinen und Coccidien vorübergehende geißeltragende Zustände in den männlichen Gameten vorkommen, brauche nicht auf eine Abstammung von Flagellaten zu deuten; denn dieser Charakter wird auch für die schon verschiedentlich aufgestellte hypothetische Stammform der Rhizopoden und Flagellaten angenommen, die zeitweilig amöboid, zeitweilig geißeltragend sein soll. Damit ist aber wohl doch nicht die außerordentlich hohe Entwicklung des Geißelapparates, wie sie sich bei Coccidien findet, hinreichend erklärt. Außerdem spricht das Vorhandensein eines dem Blepharoplast sehr ähnlichen Gebildes bei *Selenococcidium* stark für die Flagellatenabstammung.

Anhang.

In diesem Abschnitt will ich noch über einige Beobachtungen berichten, die zwar nicht in einem engen Zusammenhang mit meinem eigentlichen Thema stehen, aber doch vielleicht einiges Interesse verdienen.

Da ich anfangs die Absicht hatte, die geschlechtliche Fortpflanzung an den kleinen Monocystideen der Regenwurmsamenblasen zu studieren, versuchte ich, die Regenwürmer künstlich zu infizieren, um auf diese Weise die Cysten, vor allem die jüngsten Stadien, in größeren Mengen zu gleicher Zeit zu bekommen. Günstige Resultate ergaben sich auch wirklich bei Fütterung mit Erde, die stark mit klein zerstückelten Samenblasen durchsetzt war. Es fanden sich in etwa der Hälfte so behandelter Tiere zahlreiche heranwachsende Gregarinen, etwa 10—12 Tage nach der Fütterung; nach weiteren ca. 12 Tagen waren zahlreiche junge Cysten vorhanden.

Um den Entwicklungsgang der Gregarinen vom Sporozoiten im Darm bis zur ausgewachsenen Gregarine in der Samenblase zu verfolgen, suchte ich zunächst bei frisch infizierten Regenwürmern die Sporozoiten im Darm festzustellen, aber vergeblich. Die Infektion war offenbar zu schwach, um die kleinen Sporozoiten zwischen dem Darminhalt zu finden. Ich versuchte dann verschiedene andere Methoden der Infektion, auch die direkte Einführung von reifen Cysten in den Darm, teils mit einer Pipette durch Mund und After, teils mit einer Kanüle durch die Körperwand. Aber auch diese Verfahren führten nicht zum gewünschten Erfolg; wie ich dann später in der umfassenden Monocystideenarbeit von Hesse (1909) lesen konnte, hatte auch dieser Autor, der die gleichen Versuche machte, nur geringe Erfolge. Schließlich wandte ich folgendes Verfahren an, das zum Ziel führte. Aus dem Inhalt der Samenblasen von etwa 100 Regenwürmern wurde durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung eine Flüssigkeit hergestellt, die außerordentlich reich an reifen Gregarinencysten war. Mit dieser Flüssigkeit wurden große Bogen Fließpapier möglichst gleichmäßig beträufelt, so daß, wie man sich durch Stichproben überzeugen konnte, jedes kleine Stückchen Papier mit einigen Cysten besetzt war. Das Papier wurde dann in fein zerzupftem Zustand an Regenwürmer verfüttert, deren Darm schon durch mehrtägiges Füttern mit Fließpapier von der bei der Untersuchung lästigen Erde befreit war. Auf diese Weise erzeugte ich so starke Infektionen, daß die Sporozoiten stets in großer Zahl im Darminhalt, sowohl lebend wie auch in Ausstrichpräparaten, festzustellen waren. Meine Beobachtungen stimmen hier nun genau mit dem überein, was Hesse über einen mehr zufälligen Befund berichtet. Das Ausschlüpfen der Sporozoiten ist nach dem lebenden Objekt in Fig. 60, nach Ausstrichpräparaten in Fig. 58 dargestellt. Die Sporocyste öffnet sich nur an einem Ende, durch die enge Öffnung zwängen sich die Sporozoiten nacheinander hindurch. Die

freien Sporozoiten zeigen lebhafte, oft ruckartige Bewegungen durch Krümmung und Schlängelung des ganzen Körpers. Verfolgt man die Sporocysten auf ihrem Transport durch den Darm, so ergibt sich, daß sie den Ösophagus, Magen und vorderen Darmabschnitt unversehrt passieren; erst etwa von der Mitte des ganzen Tieres an nach rückwärts findet man freie Sporozoiten. Es wäre nun natürlich interessant, festzustellen, auf welchem Wege die Sporozoiten von hier wieder nach vorn in die Samenblasen gelangen. Nach einigen vergeblichen Versuchen, Sporozoiten im Darmepithel auf Schnitten durch stark infizierte Tiere aufzufinden, habe ich diese Untersuchungen vorläufig aufgegeben. Hesse erging es nicht besser, und das ist nicht weiter wunderbar, da man die kleinen Sporozoiten in dem drüsenreichen Darmepithel des Regenwurms nur dann wird finden können, wenn man beim Schneiden zufällig auf eine stark befallene Stelle des Epithels trifft. Immerhin scheint der eingeschlagene Weg der weiteren Benutzung und Besserung fähig.

Eine zweite gelegentliche Beobachtung bezieht sich auf die Copulae der *Monycystis rostrata*. Es war mir aufgefallen, daß die Copulae in charakteristischer Weise ihre Lage und Gestalt verändern. Bei der Copulation zerfällt der Inhalt der Cyste in zwei annähernd halbkuglige Teile: der eine ist angefüllt vom Restkörper, im anderen befinden sich nur die Gameten, bzw. Copulae. Später findet man die Copulae wieder hier und da im Restkörper verteilt. Schließlich zur Bildung der Sporocyste sammeln sich alle Copulae unter der ganzen Oberfläche der Cyste, während der Restkörper eine zentral gelegene Kugel bildet. Da genaue Messungen vor und nach diesem Aufenthalt der Copulae im Restkörper eine deutliche Größenzunahme erkennen ließen, kam ich auf die Vermutung, daß hier irgendeine Stoffaufnahme vor sich gehen möchte. Bei einer Karminfärbung nach Best ergab sich nun, daß die Copulae nach ihrem Aufenthalt im Restkörper beladen erschienen mit zahlreichen, rotgefärbten Schollen, wie das die Fig. 69 u. 70 darstellen (der Kern ist in diesen Präparaten mit Hämatoxylin blaugefärbt). Nach diesem Verhalten der Best'schen Färbung gegenüber erweisen sich die Schollen als glykogenartige Körper. Sie finden sich nie in Gameten und in jungen Copulae (Fig. 68), werden also offenbar bei den oben geschilderten Vorgängen aufgenommen. Das weitere Schicksal dieses Stoffes habe ich nicht verfolgt; er findet sich noch in den schon

mit einer Hülle umgebenen jungen Sporocysten und dient vermutlich den Sporozoiten als Reservestoff.

Ein anderer Reservestoff wird schon von den Gameten bei ihrer Loslösung vom Restkörper mitgenommen. Die lebenden Gameten erscheinen mit einer Anzahl kleiner, stark lichtbrechender Kügelchen beladen, die an ihrer Oberfläche hängen. Da diese Kügelchen im Präparat sich nur bei osmiertem Material wiederfinden (Fig. 71), bei allen anderen Fixierungen dagegen spurlos verschwinden, handelt es sich wohl um eine fettartige Substanz. Auch diese Kügelchen sieht man noch in der schon beschalten Sporocyste und sie dienen wohl ebenfalls als Reservestoffe.

Die beiden geschilderten Beobachtungen sind noch durchaus unvollkommen, da weder Ursprung noch endgültiger Verbleib der in Frage stehenden Gebilde festgestellt ist. Trotzdem glaubte ich die Beobachtungen mitteilen zu können, da sie zeigen, daß hier manche interessante chemische Vorgänge zu suchen sind, die noch der Aufklärung bedürfen. Überhaupt wird es sich verlohnen, die Aufspeicherung des Reservestoffmaterials bei Gregarinen an einem günstigen Objekt im Zusammenhang mit cytologischen Vorgängen genauer zu verfolgen. Es wäre interessant, zu erfahren, ob und in welcher Weise die während des vegetativen Lebens der Gregarine angesammelten, geradezu ungeheuren Paraglykogenmassen bei der Bildung der Dauercyste Verwendung finden, oder ob sie nur ein Stoffwechselzwischenprodukt im vegetativen Leben darstellen.

Zum Schluß will ich noch einige allgemeine Angaben über das Vorkommen und den Lebenslauf der *Monocystis rostrata* machen. Wie schon erwähnt, findet sich die Gregarine in den Geschlechtssegmenten von *Lumbricus terrestris*, und zwar sind etwa 10 Proz. aller Tiere stark infiziert; in den übrigen findet sich der Parasit nur ganz vereinzelt. Beachtenswert erscheint, daß der Lebenscyclus des Tieres sich streng an die Jahreszeiten hält. Auch für die kleineren Monocystideen der Regenwurmsamenblasen ist bekannt, daß man bestimmte Entwicklungsstadien zu gewissen Jahreszeiten besonders häufig findet; doch sieht man daneben alle Stadien in jeder Jahreszeit. Bei *Monocystis rostrata* habe ich Abweichungen von der Regel bei meinen Untersuchungen, die sich über 2 Jahre und auf 4—5000 Regenwürmer erstrecken, nur äußerst selten gefunden. Es muß das deshalb merkwürdig erscheinen, als die Infektionsbedingungen doch wohl die gleichen sind wie für die kleinen Monocystideen.

Den Zeitpunkt der Encystierung kann man künstlich durch Temperatureinfluß verschieben. In Regenwürmern, die im Dezember und Januar gesammelt wurden und demgemäß nur mit nicht encystierten Gregarinen infiziert waren, begann allgemein die Encystierung schon nach kurzem Aufenthalt in Zimmertemperatur. Die Vorgänge in der Cyste nahmen den gleichen Verlauf, wie sie ihn unter normalen Bedingungen etwa im April begonnen hätten. Ob sich die Encystierung durch dauernde niedrige Temperatur verhindern oder verspäten läßt, habe ich nicht festgestellt. Jedenfalls werden die Vorgänge in der Cyste durch die Einwirkung niedriger Temperatur stark verlangsamt. Während bei mittlerer Temperatur (18° C) vom Beginn der Encystierung bis zur Bildung der Sporocysten etwa 4 Wochen verstreichen, nimmt derselbe Prozeß bei einer Temperatur von 6° C über 8 Wochen in Anspruch. Abgesehen von dieser Verzögerung zeigen sich keine Abweichungen vom normalen Verlauf der Vorgänge.

Die reifen Cysten, die man im Herbst und Sommer findet, sind merkwürdigerweise im nächsten Frühjahr neben den jungen Cysten der nächsten Generation nur noch sehr selten vorhanden. Hesse scheint anzunehmen, daß sich die reifen Cysten auch der die Samenblasen bewohnenden Gregarinen in der Leibeshöhle am hinteren Ende des Regenwurms sammeln, um von hier nach außen zu gelangen. Ich habe die Cysten der *Monocystis rostrata* niemals an dieser Stelle gefunden. Wie sie aber nach außen gelangen, ist mir nicht bekannt.

Es ist schon oben hervorgehoben, daß ich die Monocystideen, welche die Leibeshöhle des Regenwurms vom Magen an nach rückwärts bewohnen und von denen auch die im Hinterende sich anhäufenden Cysten stammen, gut abgrenzen konnte gegen die *Monocystis rostrata*. Unter den Bewohnern der Leibeshöhle kann man mindestens zwei große Arten unterscheiden, die ich noch kurz charakterisieren will.

Die eine Form, bei weitem die größte, ist rundlich, meist abgeplattet; sie erreicht eine Größe von 3—4 mm im Durchmesser. Man findet sie nicht besonders häufig. Sie ist ziemlich metabol und macht auf dem Objektträger regelmäßig sich wiederholende, fließende Bewegungen, ohne sich dabei von der Stelle zu bewegen. Die Cysten sind oval, im Mittel 1,1 mm lang und 0,8 mm breit. Die Sporocyste mißt 32 μ Länge und 14 μ Breite. Da diese Angaben, besonders auch die Maße, mit denen, die Hesse für die *Monocystis herculea* gibt, im wesentlichen übereinstimmen, ist es wohl angebracht, für diese Species den erwähnten Namen beizubehalten.

Eine zweite Art ist wesentlich kleiner und viel häufiger. Das erwachsene Tier ist rundlich, etwa 425 μ im Durchmesser. Zwei Merkmale sind für diese Species äußerst charakteristisch; erstens sind die Tiere stets auf ihrer ganzen Oberfläche dicht mit den Lymphocyten des Regenwurms besetzt; zweitens findet man sie meistens zu Ketten von 2—6 Tieren hintereinander gereiht. Der Kern enthält, ebenso wie bei der vorigen Art, mehrere (3—7) kuglige Nucleolen. Die Cysten sind annähernd kugelrund und messen etwa 500 μ im Durchmesser. Die Sporocyste ist 14 μ lang und 6 μ breit. Diese Maße entsprechen annähernd denen, die Hesse für eine zweite Sorte von Sporocysten der *Monocystis herculea* gibt. Die Cysten der besprochenen Art füllen mitunter die letzten Segmente des Regenwurms vollständig aus, so daß sie bei Anschneiden der Körperwand zu Hunderten hervorquellen. Ich schlage für diese Species wegen ihrer charakteristischen Kettenbildung den Namen *Monocystis catenata* vor.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. v. Hertwig, unter dessen Leitung die vorliegenden Untersuchungen ausgeführt wurden, sage ich für seine Anregung zum Studium der Gregarinen, besonders aber für das dauernde Interesse, das er meinen Arbeiten entgegenbrachte, meinen herzlichsten Dank. Auch Herrn Prof. Dr. Goldschmidt bin ich für manche Unterstützungen und wertvollen Ratschläge zu großem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

Awerinzew, S. (1910): Über die Stellung im System und die Klassifizierung der Protozoen. Biol. Centralbl. Bd. 30.

Berndt, A. (1902): Beitrag zur Kenntnis der im Darme der Larve von Tenebrio molitor lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.

Bosanquet, W.-Cecil (1894): Notes on a Gregarine of the Earthwurm (Lumbricus herculeus). Quart. Journ. of micr. Sc., 2e série, Vol. 36.

Brasil, L. (1905a): Recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. Zool. exp. (4) T. 2.

— (1905b): Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. Zool. exp. (4) T. 4.

Buchner, P. (1910): Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellforsch. Bd. 5.

Bütschli, O. (1883—87): Protozoa. II. Mastigophora. Bronn's Klassen u. Ordn. des Tierreichs.

Bütschli, O. (1885): Bemerkungen über einen dem Glykogen verwandten Körper bei Gregarinen. Zeitschr. f. Biol. Bd. 21.

Caullery et Mesnil (1899): Sur l'évolution d'un groupe de Grégarines à aspect nematoïde, parasites des annélides marines. C. R. Soc. Biol.

— — (1900): Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines Arch. Anat. micr. T. 3.

Comes, S. (1907): Untersuchungen über den Chromidialapparat der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Cuénot, L. (1901): Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. T. 17.

Dogiel, V. (1906): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

— (1907): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. II. Schizocystis sipunculi nov. sp Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

Drzewecki, W. (1903): Über vegetative Vorgänge im Kern und Plasma der Gregarinen des Regenwurmhodens. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.

— (1907): Über vegetative Vorgänge im Kern und Plasma der Gregarinen. II. Stomatophora coronata nov. gen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Enriques, P. (1907): La coniugazione e il differenziamento sessuale negli infusori. Arch. f. Protistenk. Bd. 9.

Hartmann, M. (1907): Das System der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

Hartmann, M. u. Chagas, C. (1910): Flagellatenstudien. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz T. 2.

Henneguy, F. (1889): Formation des spores de la Grégarine du Lombric. Ann. micrographie T. 1.

Hertwig, R. (1892): Über Befruchtung und Conjugation. Verhandl. d. Deutsch. Zool. Ges.

— (1895): Über Centrosom und Centralspindel. Sitz.-Ber. Ges. Morph. u. Physiol. München.

— (1902): Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.

— (1902): Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. Sitz.-Ber. d. kgl. bayr. Akad. d. Wiss. München Bd. 32.

— (1908): Über neue Probleme der Zellenlehre. Arch. f. Zellforsch. Bd. 1.

Hesse, E. (1909): Contribution à l'étude des Monocystidées des Oligochètes. Arch. Zool. exp. (5) T. 3.

Hoffmann, R. (1908): Über Fortpflanzungserscheinungen von Monocystideen des Lumbricus agricola. Arch. f. Protistenk. Bd. 13.

Kuschakewitsch, S. (1907): Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms. Arch. f. Protistenk. Suppl. I.

Léger, L. (1900): La reproduction sexuée chez les Ophryocystis. C. R. Acad. Sc. Paris T. 131.

— (1904): La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.

— (906): Etude sur Taeniocystis mira Léger, Gregarine metamerique. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

— (1907): Les Schizogrégarines des Trachéates. 1. Le genre Ophryocystis. Arch f. Protistenk. Bd. 8.

Léger, L. et Duboscq, O. (1903): La reproduction sexuée chez Pterocephalus. Arch. Zool. exp. T. 1.

Léger, L. et Duboscq (1908): L'évolution schizogonique de Aggregata (Eucoccidium) Eberthi. Arch. f. Protistenk. Bd. 12.
— — (1909): Etudes sur la sexualité chez les Grégarines. Arch. f. Protistenk. Bd. 17.
— — (1910): Selenococcidium intermedium Lég. et Dub. et la systématique des Sporozoaires. Arch. Zool. exp. (5) T. 5.
Lieberkühn, N. (1855): Evolution des Grégarines. Mém. cour. et mém. des sav. étrangers de l'Acad. de Belgique T. 26.
Lühe, M. (1904): Bau und Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
Lyndhurst Duke, H. (1910): Some observations on a new Gregarine (Metamera Schubergi nov. gen., nov. spec.). Quart. Journ. of micr. Sc. Vol. 55.
Moroff, Th. (1907a): Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkerns. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.
— (1907b): Untersuchungen über Coccidien. I. Adelea zonula n. sp. Arch f. Protistenk. Bd. 8.
Nägler, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.
Nusbaum, J. (1903): Über die geschlechtliche heterogame Fortpflanzung einer im Darmkanal von Henlea leptodera Vejd. schmarotzenden Gregarine Schaudinella henleae mihi. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 75.
Paehler, Fr. (1904): Über die Morphologie, Fortpflanzung und Entwicklung von Gregarina ovata. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
Popoff, M. (1908): Die Gametenbildung und die Conjugation von Carchesium polypinum. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 89.
Porter, A. (1908): A new Schizogregarine, Merogregarina amaroucii nov. gen. nov. sp., parasitic in the alimentary tract of the composite Ascidian Amaroucium sp. Arch. Zool. exp. (4) T. 9. Notes et Revue.
Prandtl, H. (1906): Die Conjugation von Didinium nasutum. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
Prowazek, S. (1902): Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.
Schaudinn, F. (1905): Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verh. d. Deutsch. Zool. Ges.
Schellack, C. (1907): Über die Entwicklung und Fortpflanzung von Echinomera hispida. Arch. f. Protistenk. Bd. 9.
Schnitzler, H. (1905): Über die Fortpflanzung von Clepsidrina ovata. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.
Siedlecki, M. (1900): Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidiae R. Lank. Anz. Akad. Wiss. Krakau 1899.
— (1905): Über die Bedeutung des Caryosoms. Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie.
Wolters, M. (1891): Die Conjugation und Sporenbildung bei Gregarinen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37.

Lebenslauf.

Ich wurde geboren am 23. Juli 1887 zu Neubrandenburg (Mecklenburg-Str.) als Sohn des Lehrers Adolf Mulsow. Von 1894—97 besuchte ich die Vorschule, dann das Gymnasium meiner Vaterstadt, das ich Ostern 1906 mit dem Zeugnis der Reife verließ. 1. April 1906—07 genügte ich meiner Dienstpflicht als Einj.-Freiw. beim Großh. Mecklenb. Füsilier-Regiment Nr. 90 zu Rostock. Sommersemester 1907 und Wintersemester 1907/08 studierte ich an der Universität Freiburg i. B. Mathematik und Naturwissenschaften; seit Sommersemester 1908 bin ich bei der Ludwig-Maximilians-Universität zu München immatrikuliert; hier widmete ich mich hauptsächlich dem Studium der Zoologie.

Karl Mulsow.

Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdruckerei), G. m. b. H., Naumburg a. S.

G. Pätz'sche Buchdruckerei Lippert & Co. G. m. b. H.,
Naumburg a. S.